OMAGGIO

R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA
LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

72.

M. VALLEGGI

La Batterioriza della " Borrago officinalis „ L.

Estratto dal *Bollettino del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa*
Volume VIII - Anno 1932 - X.

PISA: ARTI GRAFICHE PACINI MARIOTTI 1932 - X
Cav. EMILIO PACINI, Successore

M. VALLEGGI

La Batterioriza della " Borrago officinalis ,, L.

XVIII.

M. VALLEGGI

La Batterioriza della " Borrago officinalis „ L.

(*Giunta il 12 novembre 1932 - XI*)

È ormai noto il concetto della « Batterioriza » (1) — associazione mutualistica tra batteri e radici di piante verdi — messa per la prima volta in rilievo dal Prof. R. Perotti in numerosi vegetali (2) e particolarmente da lui studiata su radici della *Diplotaxis erucoides* DC. (3) e della *Calendula officinalis* L. (4).

Successivamente il Dott. O. Verona studiava la batterioriza del *Senecio vulgaris* L. (5) e, riprendendo lo studio della *Diplotaxis erucoides* DC. (6), avvalorava con nuovi reperti il fatto, confermando altresì l' ipotesi, già emessa dal Prof. Perotti, che la batterioriza non sempre è determinata da una specie unica caratteristica, ma da specie anche sistematicamente diverse e non sempre necessariamente identiche quanto sono affini, invece, per funzione.

Per continuare questi studi e in tal modo estendere le conoscenze sulla batterioriza, ho preso in esame le radici della *Borrago officinalis* L. appositamente coltivata per quattro anni successivi in una parcella del campo sperimentale dei Laboratori; e ciò in quanto, esami microscopici diretti

della radice, mi avevano accertata, nei primi strati del parenchima corticale, la presenza di forme microrganiche.

Lavate prima con forte getto di acqua, indi con sublimato e poi ancora con acqua sterile, porzioni di radici furono spappolate in brodo di fagiuoli con aliquote del quale seminai un certo numero di piastre allestite con agar-fagiuoli e agar-*Borrago*.

Coltivai in termostato a 24° C.

Dopo due giorni comparvero numerose colonie riferibili tutte ad un medesimo tipo e prevalenti sulle altre, non molte, inquinanti.

Eseguite colture d' isolamento condussi lo studio sistematico della forma fissandone i caratteri sulle apposite « Carte descrittive » Perotti in uso in questi Laboratori.

1. Caratteri delle colonie.

— Su agar-fagiuoli. Al 7° giorno, colonie superficiali, grandi, isolate, semitrasparenti, leggermente iridescenti, biancastre, membranacee, subrotonde, piatte, ad orlo continuo, nucleate al centro; al 15° e 30° giorno, con il progresso della coltura, le colonie si mostrano talvolta confluenti, un poco più inspessite al centro e piú trasparenti agli orli: gli altri caratteri permangono identici.

— Su agar-peptone, caratteri simili, sviluppo meno rigoglioso.

2. Caratteri degli strisci.

— Su agar-fagiuoli. Al 7° giorno patina continua, estesa, trasparente, leggermente iridescente, biancastra, membranacea, liscia, umida, ad orlo continuo, scolante: acqua di

condensazione limpida. Al 15° giorno la patina, inspessendosi, tende a divenire opaca e al 30° secca; l' acqua di condensazione nel frattempo si intorbida con formazione di deposito. Il substrato rimane sempre invariato.

— Su agar-peptone, caratteri identici a quelli su agar-fagiuoli. Lo sviluppo, cionondimeno, é leggermante più rapido ma appare più scarso scolando fortemente, la patina, nell' acqua di condensazione; al 30° giorno la patina incomincia a raggrinzirsi. Il substrato rimane anche qui invariato.

3. Caratteri delle colture liquide.

— In brodo fagiuoli, che rimane scorrevole, sviluppo notevole, che si palesa a mezzo dell' intorbidamento omogeneo del liquido, formazione di sedimento fioccoso e di coperta resistente, ma liscia e sottile prima, indi spessa e raggrinzita.

— In brodo carne, sviluppo ugualmente pronto: il liquido rimane scorrevole, ma assume una leggera colorazione giallo-fluorescente; si intorbida omogeneamente, forma sedimento fioccoso e coperta spessa, resistente, da prima liscia, indi raggrinzita.

4. Nutrizione.

Come alimento azotato, tra i composti organici, molto favorevole si dimostrò il peptone, meno l'asparagina, specie se non accompagnata da sorgente carboidrata; tra i composti minerali molto rigoglioso sviluppo si ebbe in presenza di nitrato potassico.

Come sorgente di carbonio la specie dimostrò favorire gli zuccheri a preferenza degli alcool polivalenti (glicerina).

Lo sviluppo fu in ogni caso positivo, anche in condizioni alimentari diverse, sebbene inferiore a quello precisato, e si rese evidente con intorbidamento più o meno intenso dei liquidi, formazione di sedimento e coperta, e, in alcuni casi, colorazione giallo-verde fluorescente.

Sviluppo notevole su patate e su carota, con formazione di patina avente caratteri simili a quella formantesi su agar-fagiuoli.

5. Caratteri generali.

Corti bastoncini aventi estremità arrotondate e misuranti μ 0,6-0,8 $\times$ 1 — 1,5: mobilissimi.

Prendono bene i colori di anilina e la carbolfucsina di Ziehl; sono Gram-negativi, non acido-resistenti.

6. Caratteri fisiologici.

a) Posseggono potere fermentativo per il glucosio, la qual cosa si accertò a mezzo di colture eseguite in tubi di Smith contenenti infuso di fagiuoli addizionato del 5 % di glucosio, ove si formarono fin dal secondo giorno di coltura a 28° C. bolle gassose.

b) Saccarificano l' amido con conseguente formazione di zuccheri riduttori e successiva trasformazione di questi in alcool.

Per tali prove fu fatto uso di una poltiglia costituita da fecola di patate e infuso fagiuoli nel rapporto di 1 : 10 (precisamente gr. 25 di fecola e 250 di brodo) sterilizzata in corrente di vapore. Poi si coltivò, previa inoculazione della forma in esame, a 24° C.

Due recipienti, ugualmente allestiti, furono lasciati di controllo. Fin dal 3° giorno, nelle colture attive, fu notato forte sviluppo di gas e fluidificazione del substrato. Al 7° giorno si determinarono gli zuccheri e l'alcool presenti nelle colture:

	Zuccheri rid. formatisi da gr. 25 di fecola
controllo I	—
» II	—
coltura attiva I	gr. 0,2382
» » II	» 0,2370
	Alcool % in peso:
controllo	—
coltura attiva	7,6

c) Non producono acidi.

d) Non sviluppano nè luce, nè calore, nè fosforescenza.

e) Non producono indolo.

f) Non producono idrogeno solforato.

g) Non coagulano il latte.

h) Non hanno azione sui grassi.

i) Hanno potere proteolitico (fiuidificazione della gelatina: v. quanto in 7).

l) Non fissano azoto (mancato sviluppo nella soluzione di Beijerinck).

m) Non nitrificano (mancata formazione di nitrati da una soluzione di solfato ammonico).

n) Non denitrificano (sviluppo abbondante nella soluzione di Giltay, ove i nitrati non vennero ridotti trascorso oltre un mese di tempo).

o) Non ammonizzano (sviluppo discreto in soluzione di peptone all' 1,5 $^{0}/_{0}$, ma assenza di formazione di ammoniaca).

7. Infissioni.

— In agar-fagiuoli sviluppo esclusivamente superficiale: non fluidificazione.

— In gelatina, sviluppo superficiale e lungo il fittone; fluidificazione piuttosto rapida, prima a coppa indi a cilindro: liquido torbido con deposito al fondo.

8. Riproduzione.

Batteri moltiplicantisi per divisione, asporulanti.

9. Riferimento sistematico.

I caratteri morfologici, di mobilità e di asporigenicità fanno rientrare la specie in esame entro il Gen. *Bacterium* e nel gruppo di *Bact. punctatum* (Zimm.) L. et N. ([7]), da cui pertanto si discosta per la mancata coagulazione del latte e la mancata produzione d' indolo.

Molto simile è invece al *Bact. Blandineum* Verona ([8]), da cui pertanto potrebbe tenersi distinto per il differire di alcuni caratteri secondari.

CONCLUSIONI

Dalle radici della *Borrago officinalis* L. è stata isolata una forma batterica, frequentemente rinvenibile nel suolo tra la flora banale. Essa ha dimostrato avere potere proteolitico e amilolitico; quindi, assumendo rapporti di correlazione funzionale con le radici della pianta, può tornare a questa di vantaggio nel senso attribuito dal concetto della batterioriza.

Ringrazio il Dott. O. Verona per la cortese e valida assistenza prestata a questo lavoro.

Dal Laboratorio di Batteriologia
del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa
novembre 1932 - XI

NOTE

(1) R. Perotti — *La Batterioriza*, Riv. di Biologia, vol. V, fasc. 6°, 1923.

(2) — e J. Cortini-Comanducci — *Normale presenza di batteri nelle radici di numerose fanerogame*. Rend. Acc. Lincei, XXXI, ser. 5ª, 2° sem., fasc. 10, p. 484, 1922.

(3) R. Perotti — *Sulla presenza di una specie batterica nelle radici della Diplotaxis erucoides* DC. id. fasc. 9, p. 331, 1919.

— *Ulteriori ricerche sui bacilli radicali della Diplotaxis erucoides* DC, id., fasc. 2, p. 361, 1920.

— *Ancora sui bacilli radicali della Diplotaxis erucoides* DC. id., fasc. 1-2, p. 46, 1925.

(4) — e G. Zaffuto — *Sui bacilli radicali della Calendula officinalis* L. id., fasc. 2, p. 94, 1923.

(5) O. Verona — *Sui bacilli radicali del Senecio vulgaris* L. Boll. R. Istituto Sup. Agrario di Pisa, 1927.

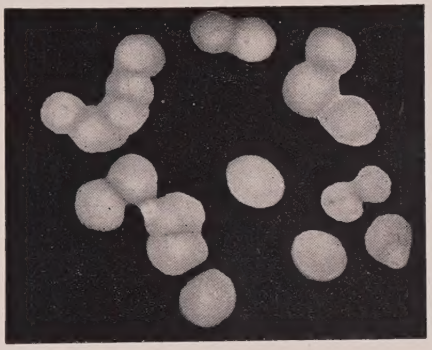
(6) — e Bologna — *Contribuzioni alla conoscenza della Batterioriza della Diplotaxis erucoides* DC. Pisa, 1929.

(7) Zimmermann — *Bakt. unserer Trink.-und Nützwässer*, Chemnitz, 1890, v. anche: Lehmann e Neumann — *Manuel de Bactériologie*, Paris, 1913.

(8) O. Verona — *Secondo contributo di ricerche sulla microbiologia dei terreni della Campagna Pisana*, Pisa, 1929.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

1. — Colonie su agar-fagiuoli
2. — Microfotografia della forma
3. — Strisciamento su agar-fagiuoli
4. — Lo stesso su agar-peptone



1.

2.

3

4.